© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Bonn. zool. Beitr.	Bd. 39	H. 1	S. 49—58	Bonn, März 1988

Durchflußzytophotometrische DNA-Bestimmung bei ausgewählten Amphibien- und Reptilien-Arten

Wolfgang Ulrich, Barbara Fritz & Johannes Peter Fritz

Abstract. Flow cytometric DNA-determinations were made from cells of 10 amphibian and 16 reptile species stained with the DNA specific fluorochrome DAPI. The absolute DNA content (in pg/cell) was calculated by using chicken red blood cells as an internal standard. Nucleated red blood cells had a lower DNA content than cells prepared from tissues. Different values of nuclear DNA in erythrocytes from female and male animals were determined within the genus *Xenopus*, females being a little bit higher in DNA amount. Intragenic DNA contents of amphibians and reptiles are almost uniform. Differences between species of the same family and within single genera could be detected. Flow cytometry is a suitable, rapid and sensitive technique for direct and quantitative examination of cellular DNA and may be used as an additional cytogenetic marker in the taxonomy of animals.

Key words. Flow cytometry, DNA content, amphibians, reptiles.

Einleitung

Genetische Untersuchungsmethoden liefern in vielen Fällen entscheidende Grundlagen für die zoologische Taxonomie und Phylogenie. Weit verbreitet sind bisher Chromosomenanalysen, Serumproteinelektrophorese, Immunologie und DNA-Hybridisierung. Als weitere Methode wurde die Bestimmung der Polynukleotidsequenzen der DNA beschrieben (Hoyer et al. 1964). Eine neue, einfache, sensitive und schnelle Technik zytogenetischer DNA-Untersuchungen ist die Durchflußzytophotometrie (Flow Zytometrie, engl. Flow Cytometry, abgekürzt FCM; Crissman et al. 1975, Mendeisohn 1980). Unter Verwendung von internen Standards mit bekanntem DNA-Gehalt pro Zelle, wie z. B. Hühnererythrozyten, kann der absolute DNA-Gehalt (in pg/Zelle) von unbekanntem Zellmaterial bestimmt werden. Grundvoraussetzung der FCM-Technik ist die Herstellung von Einzelzellsuspensionen. Dieses kann durch enzymatische Aufarbeitung oder mechanische Zerkleinerung von Geweben (Zante et al. 1976, Brattain 1979, Thornthwaite et al. 1980) erfolgen. Bei höheren Vertebraten mit Ausnahme der meisten Säuger bietet sich zudem die Untersuchung von Blutzellen an, da die Erythrozyten dieser Tiere über einen intakten Zellkern verfügen. Die ersten durchflußzytophotometrischen DNA-Untersuchungen an Amphibien wurden von Coulson und Mitarbeitern (1977) durchgeführt.

In dieser Arbeit soll der Einsatz der Flow Zytometrie zur Bestimmung des DNA-Gehalts als zusätzliches taxonomisches Kriterium am Beispiel einiger Amphibien und Reptilien dargestellt werden.

Material und Methoden

Eine Amphibienart und die meisten Reptilien wurden auf Exkursionen in den Nahen Osten (Ägypten, Syrien) und Südwest-Arabien (Arabische Republik Jemen) gesammelt. Eine genaue

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Beschreibung der geographischen Verbreitung, Morphologie und Ökologie liegt bereits vor (Fritz 1985, Schütte 1986, Fritz & Schütte 1987a, 1987b, 1987c). Alle weiteren untersuchten Amphibien stammen aus Nachzuchten (Schütte & Spieler 1986). Folgende Arten (mit Ursprungsgebiet) wurden mit der FCM-Methode untersucht:

Amphibia: Urodela

Pipidae:	*Pipa carvalhoi* (Brasilien)
	Pipa pipa (Peru)
	Xenopus borealis (Kenia)
	Xenopus laevis (Südafrika)
	Xenopus muelleri (Südliches Afrika)
	Xenopus tropicalis (Elfenbeinküste)
	Xenopus spec. (Süd-Amerika)
Bufonidae:	*Bufo pentoni tihamicus* (Arabische Republik Jemen)
	Bufo guttatus (Süd-Amerika)
Hylidae:	*Osteocephalus verruciger* (Peru)

Reptilia: Sauria

Gekkonidae:	*Hemidactylus flaviviridis* (Hoddeidah; Jemen)
	Hemidactylus frenatus (unbekannt)
	Hemidactylus turcicus parkeri (Bajil; Jemen)
	Ptyodactylus hasselquistii (At Tur; Jemen)
	Ptyodactylus guttatus (Assuan; Ägypten)
	Ptyodactylus annularis (Assuan; Ägypten)
	Tarentola annularis (Assuan; Ägypten)
Agamidae:	*Agama impalearis* (Marokko)
	Agama yemenensis (Sana'a; Jemen)
	Agama stellio (Dara'a; Syrien)
Scincidae:	*Chalcides ocellatus* (Kreta; Griechenland)
	Chalcides ocellatus (Palmyra; Syrien)
	Mabuya brevicollis (At Tur; Jemen)
	Mabuya brevicollis (Hoddeidah; Jemen)
Chamaeleonidae:	*Chamaeleo calyptratus* (Damt; Jemen)
	Chamaeleo calyptratus (Volksrepublik Jemen)

Hühnererythrozyten (CRBC) wurden zur Eichung des Flow Zytometers und als interner Standard verwendet. Der absolute DNA-Gehalt der CRBC wurde in Vorversuchen nach der Diphenylaminmethode von Burton (1956) gegen Kälberthymus-DNA bestimmt. Der Mittelwert der Messungen betrug 2.37 ± 0.16 pg. Dieser Wert stimmt mit dem in der Literatur angegebenen Werte von 2.33 pg (Altman & Katz 1976, Fasman 1976) annähernd überein (ein Unterschied von 2 % bei der eigenen Messung). Als Basis wurde der absolute DNA-Gehalt von 2.33 pg/CRBC für die durchflußzytophotometrischen Untersuchungen herangezogen.

Zellaufarbeitung, DNA-Färbung und FCM-Messungen: Blutzellen wurden durch die von Joger et al. (1986) beschriebene Methode für Reptilien gewonnen. Bei Amphibien wurde das Blut durch venöse Punktion im Mundwinkel entnommen. Bei beiden Gruppen wurde pro Art Blut von je einem Individuum mehrfach untersucht. Die Erythrozyten wurden in Plastikröhrchen mit 3.8 % Na-Zitrat und 0.02 % EDTA zur Verhinderung von Blutgerinnung überführt. Ein Tropfen der Erythrozytensuspension wurde zur DNA-Färbung verwendet. Er wurde in eine Färbelösung von 10 µg/ml DAPI (4'-6'-diamidinophenylindol) in Phosphatpuffer (PBS) pH 7.2 mit 0.5 % Triton X-100 zugegeben. Weiteres Amphibienmaterial stammte von Kaulquappen in frühen Entwicklungsstadien (Stadium 10—25; Sokol 1975). Zellmaterial aus Reptiliengewebe (Herz, Leber, Lunge) stammte von Tieren, die für histologische und morphologische Untersuchungen bereitgestellt wurden. Das Zellmaterial aus Geweben wurde direkt bei der Aufarbeitung nach der Methode von Thornthwaite et al. (1980) gefärbt. Die Zellen wurden dann ohne Fixierung mit einem PAS-II-Pulse Zytophotometer (Fa. Partec AG, Arlesheim-Schweiz) gemessen (Ulrich & Ulrich 1986).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

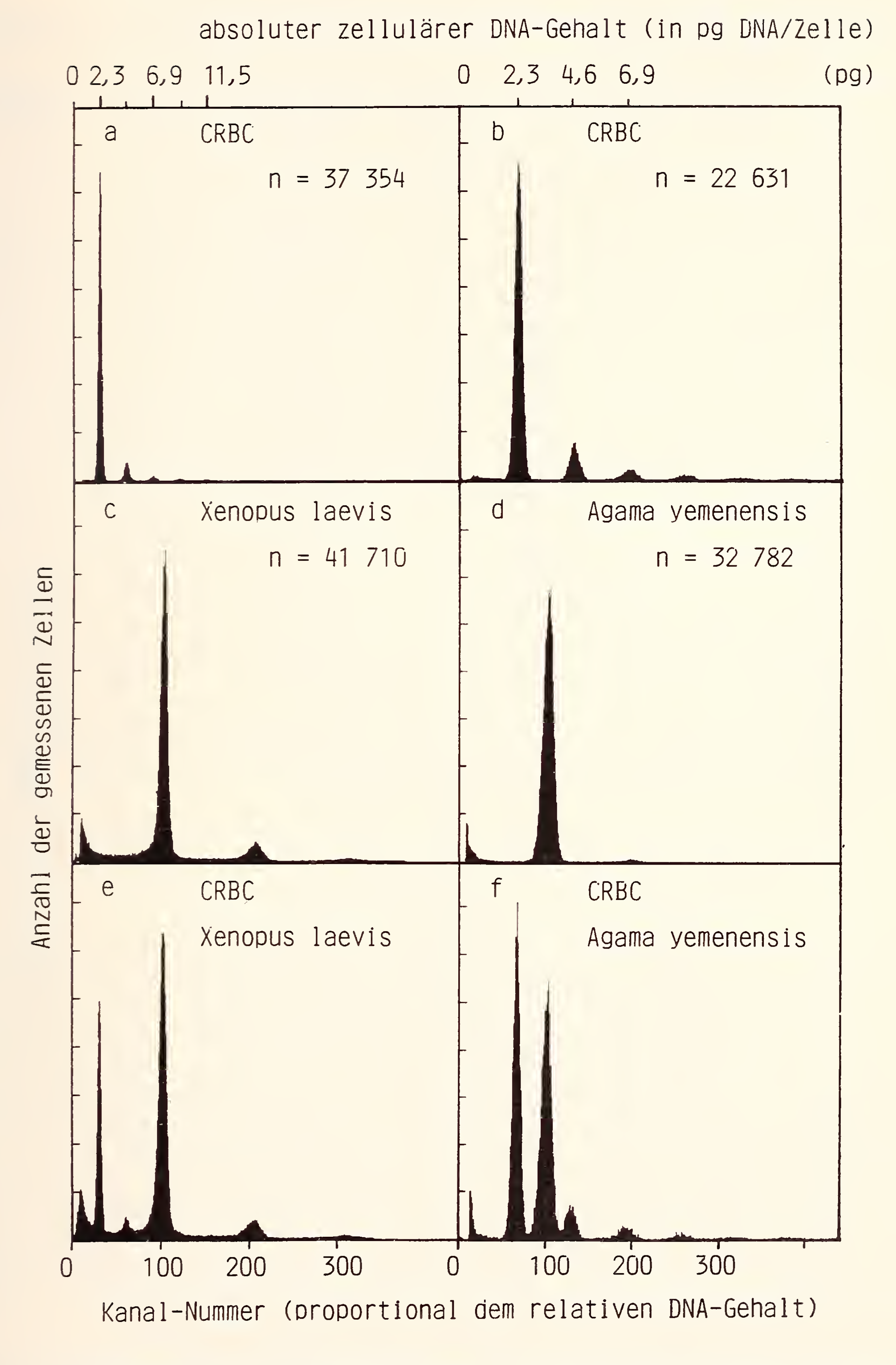


Abb. 1: DNA-Histogramme DAPI gefärbter Zellen. (a und b) Hühnererytrozyten (CRBC); (c) Kaulquappenzellen von *Xenopus laevis*; (d) Erythrozyten von *Agama yemenensis*; (e) simultane Messung von Hühnererythrozyten und *X. laevis* Zellen; (f) simultane Messung von Hühnererythrozyten und *A. yemenensis* Zellen. n = Anzahl der gemessenen Partikel.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Tabelle 1: Durchflußzytophotometrische DNA-Gehalts-Bestimmungen von Amphibienzellen.

Species	Sex*)	Probe	Anzahl der Messungen	DNA-Gehalt pro Zelle (pg)	CV-Werte (%)	Karyotyp (2n)**)
Pipidae:						
Pipa carvalhoi	w.	Blut	3	5,57±0,08	4,0—4,4	22
	m.	Blut	3	5,58±0,05	4,3—4,5	22
	n. b.	Quappe	4	5,61±0,05	2,5—2,6	22
Pipa pipa	m.	Blut	3	5,21±0,03	5,1—5,2	20
Xenopus borealis	w.	Blut	3	7,70±0,17	3,8—4,0	36
	m.	Blut	3	7,59±0,08	3,1—3,4	36
Xenopus laevis	w.	Blut	4	7,09±0,12	4,1—4,6	36
	m.	Blut	3	6,97±0,11	3,8—4,2	36
	n. b.	Quappe	6	7,97±0,08	1,7—3,1	36
Xenopus muelleri	w.	Blut	3	7,36±0,10	3,3—4,4	36
	m.	Blut	3	7,09±0,27	4,3—6,4	36
Xenopus tropicalis	w.	Blut	3	3,86±0,03	4,4—4,6	20
	m.	Blut	3	3,73±0,06	4,3—4,6	20
Xenopus spec.	w.	Blut	3	7,06±0,19	4,2—4,4	—
	n. b.	Quappe	5	7,76±0,29	2,2—3,2	—
Bufonidae:						
Bufo pentoni tihamicus	u.	Blut	3	6,40±0,07	3,4—3,5	—
Bufo guttatus	u.	Quappe	3	7,90±0,14	3,8—4,7	—
Hylidae:						
Osteocephalus verruciger	u.	Quappe	2	6,52±0,23	3,5—4,6	—

*) Sex: w. = weiblich; m. = männlich; n. b. = nicht bestimmbar; u. = unbekannt
**) Literatur: Morescalchi (1973, 1981); Thiebaud & Fischberg (1977)

Ergebnisse

Sämtliche FCM-Histogramme der Amphibien- und Reptilienzellen zeigen das charakteristische DNA-Verteilungsmuster mit Peaks für 2C-Zellen (diploide Zellen der G1- und G0-Phasen des Zellzyklus) und 4C-Zellen (tetraploide Zellen der G2-Phase und der Mitose). Zwischen diesen Peaks befindet sich der Anteil der Zellen, die die S-Phase (DNA-Replikation) durchlaufen. Zellen, die aus Geweben präpariert wurden, besitzen einen höheren S-Phase-Anteil als kernhaltige Erythrozyten. Abbildung 1 zeigt die DNA-Histogramme von Hühnererythrozyten, Kaulquappenzellen von *Xenopus laevis* und von Erythrozyten von *Agama yemenensis*. Die Bestimmung des absoluten DNA-Gehalts ergibt bei den getesteten Amphibien für die Familie Bufonidae 6,40—7,90 pg und für *Osteocephalus verruciger* aus der Familie der Hylidae 6,52 pg DNA/Zelle (s. Tabelle 1). Ein Vergleich der beiden Genera *Pipa* und *Xenopus* ergibt einen niedrigeren DNA-Gehalt bei den *Pipa*-Arten (5,21—5,58 pg) gegenüber 7—8 pg bei den *Xenopus*-Species. Eine Ausnahme stellt *Xenopus tropicalis* dar, der mit 3,73—3,86 pg DNA etwa halb so viel genetisches Material besitzt wie die anderen untersuchten *Xenopus*-Arten. Außerdem konnte an den *Xenopus*-Arten ein um 1,4—3,7 % höherer DNA-Gehalt in den kernhaltigen Erythrozyten von weiblichen Tieren festgestellt werden (s. auch Tabelle 1).

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

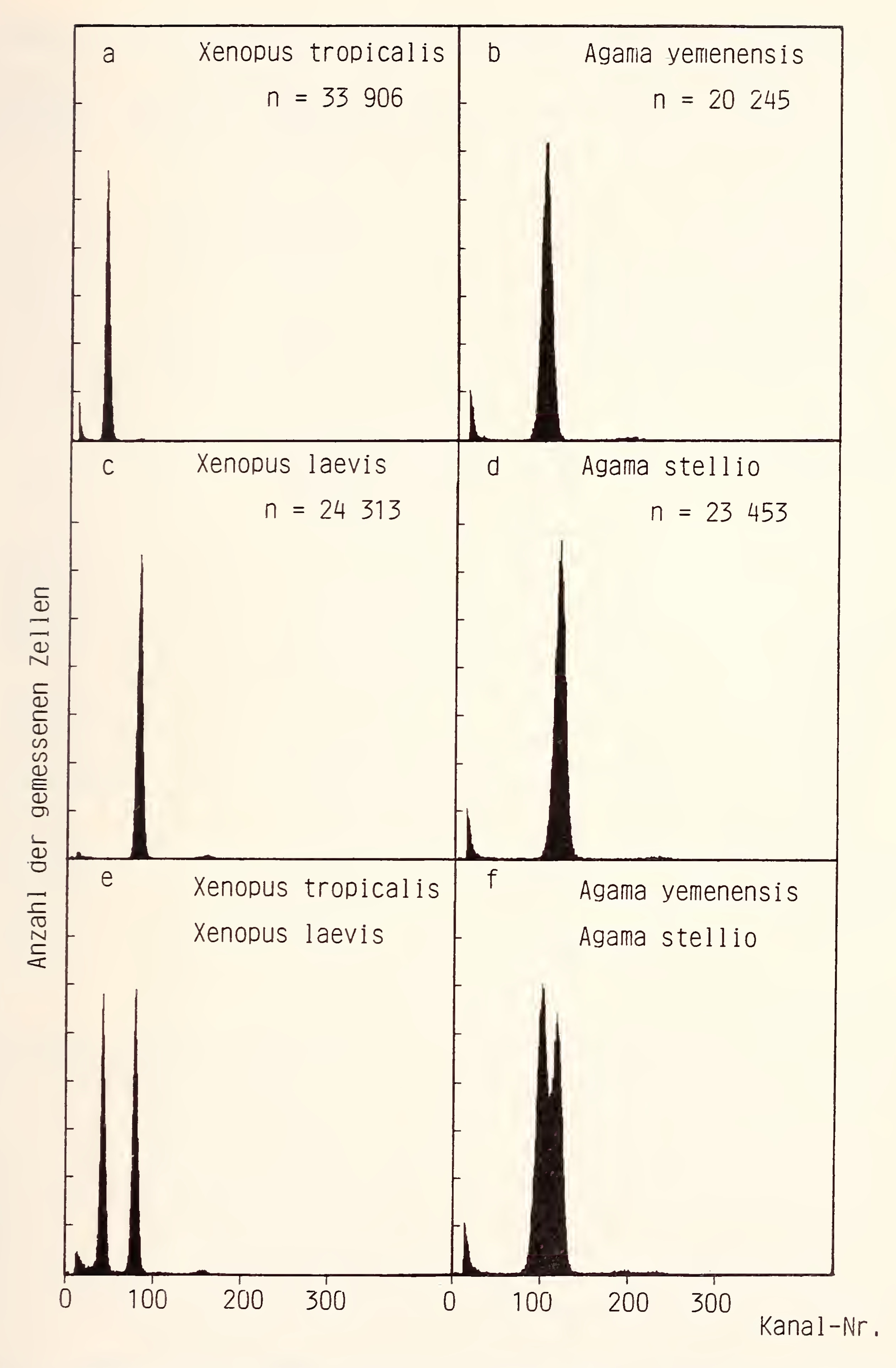


Abb. 2: Vergleich von DNA-Histogrammen. (a) Erythrozyten von *Xenopus tropicalis*; (b) Erythrozyten von *Agama yemenensis*; (c) Erythrozyten von *X. laevis*; (d) Erythrozyten von *A. stellio*; (e) simultane Messung von *X. tropicalis* und *X. laevis*; (f) simultane Messung von *A. yemenensis* und *A. stellio*. n = Anzahl der gemessenen Partikel.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Tabelle 2: Durchflußzytophotometrische DNA-Gehalts-Bestimmungen von Reptilienzellen.

Species	Sex*)	Probe	Anzahl der Messungen	DNA-Gehalt pro Zelle (pg)	CV-Werte (%)	Karyotyp (2n)**)
Gekkonidae:						
Hemidactylus flaviviridis	u.	Blut	3	4,49±0,07	2,8—5,8	46
Hemidactylus frenatus	u.	Blut	3	4,96±0,19	3,9—5,4	46
Hemidactylus turcicus parkeri	w.	Blut	2	3,49±0,07	3,4—4,5	44
Ptyodactylus hasselquistii	u.	Blut	3	4,24±0,05	3,0—4,4	40
Ptyodactylus guttatus	w.	Blut	3	3,82±0,06	2,5—3,5	—
Tarentola annularis	u.	Blut	4	4,50±0,14	3,4—6,8	—
Agamidae:						
Agama impalearis	u.	Blut	3	3,60±0,01	2,4—2,8	—
Agama yemenensis	w.	Blut	4	3,68±0,10	2,5—5,1	—
Agama stellio	w.	Blut	3	4,36±0,06	2,3—2,9	36
Scincidae:						
Chalcides ocellatus (Kreta)	m.	Blut	1	3,36	11,2	26 (28)
Chalcides ocellatus (Palmyra)	u.	Blut	3	3,23±0,22	3,4—3,9	26 (28)
Mabuya brevicollis (At Tur)	m.	Blut	5	2,55±0,05	2,9—3,4	—
Mabuya brevicollis (Hoddeidah)	u.	Blut	3	2,71±0,16	7,1—8,1	—
	u.	Herz	1	3,15	2,6	—
	u.	Leber	1	3,29	3,5	—
	u.	Lunge	1	3,18	3,5	—
Mabuya quinquetaeniata	w.	Blut	7	2,64±0,14	3,4—3,5	—
Chamaeleonidae:						
Chamaeleo calyptratus (Jemen)	m.	Blut	3	3,90±0,08	3,8—4,0	—
	m.	Herz	1	4,45	4,0	—
	m.	Leber	1	4,51	4,1	—
Chamaeleo calyptratus (DRY***)	m.	Blut	2	3,93±0,07	3,4—4,9	—

*) siehe Tabelle 1; **) Literatur: Gorman (1973); Moody & Hutterer (1978); ***) DRY = Demokratische Volksrepublik Jemen

Bei den untersuchten Reptilien ergeben sich Werte von 3,49—4,96 pg in der Familie der Gekkonidae, 3,60—4,36 pg bei den Agamidae, 2,55—3,36 bei den Scincidae und für *Chamaeleo calyptratus* 3,9 pg/Zelle. Diese Ergebnisse entstammen Analysen an Erythrozyten; einen Überblick bietet Tabelle 2. Die in den Tabellen wiedergegebenen CV-Werte (Variationskoeffizienten) sind ein Gradmesser für die Genauigkeit der statistischen Verteilung bei der Messung von einigen Tausend Einzelzellen während einer einzigen FCM-Messung. Der CV-Wert in dieser Arbeit wurde nach der Formel von Thornthwaite et al. (1980) berechnet. In Abbildung 2 sind DNA-Histogramme wiedergegeben, die Unterschiede im DNA-Gehalt von Species innerhalb einer Familie zeigen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Unterschiedliche DNA-Werte ergaben sich auch zwischen Zellen, die aus Gewebe präpariert wurden, und den kernhaltigen Erythrozyten. Ein höherer Wert wurde dabei in den Gewebezellen ermittelt (siehe Tab. 1 und 2). Ähnliche Verhältnisse gelten auch für murine und menschliche Gewebezellen und Lymphozyten (Tab. 3).

Tabelle 3: Vergleich des Kern-DNA-Gehalts tierischer Blut- und Gewebezellen.

Species	Ursprung der Proben*)	FCM-Messung des Kern-DNA-Gehalts (pg)	Literatur-DNA-Werte**)
Amphibien:			
Pipa carvalhoi	Blut (Erythrozyten)	5,57/5,58	—
	Gewebe (Quappe)	5,61	—
Xenopus laevis	Blut (Erythrozyten)	6,97/7,09	6,0/6,3
	Gewebe (Quappe)	7,97	8,4
Xenopus spec.	Blut (Erythrozyten)	7,06	—
	Gewebe (Quappe)	7,76	—
Reptilien:			
Mabuya brevicollis	Blut (Erythrozyten)	2,55/2,71	—
	Gewebe (Herz/Leber)	3,15—3,29	—
Chamaeleo calyptratus	Blut (Erythrozyten)	3,90/3,93	—
	Gewebe (Herz/Leber)	4,45—4,51	—
Säuger:			
Mus musculus	Blut (Lymphozyten)	5,87	5,31/5,64
	Gewebe (Herz/Leber)	6,81	6,0/6,6
Homo sapiens	Blut (w. Lymphozyten)	6,59	6,50
	Blut (m. Lymphozyten)	6,42	6,50
	Gewebe (Fibroblasten)	7,95	7,94

*) w. = weiblich; m. = männlich; **) Literatur: Altman & Katz (1976); Fasman (1976)

Diskussion

Die Technik der Flow Zytometrie ist eine einfache, schnelle und äußerst sensitive Methode zur Bestimmung von zellulärer DNA (Crissman et al. 1975, Mendelsohn 1980). Die gesamte Prozedur der Präparation, Färbung und Messung mit Ausgabe der Meßdaten dauert ungefähr 10 Minuten. Nur ein einziger Blutstropfen wird benötigt, um Tausende von Zellen in Suspension für die FCM-Analyse zu haben. Dies erscheint besonders von Vorteil für zytogenetische Untersuchungen an kleinen Arten bzw. an Species, die nur in wenigen Exemplaren verfügbar sind. Sehr wichtig für DNA-Untersuchungen ist es jedoch, nur homologes Zellmaterial für Vergleichszwecke heranzuziehen. So besitzen Blut- und Gewebezellen unterschiedliche DNA-Werte (Altman & Katz 1976).

Innerhalb der verschiedenen Amphibien- und Reptilienfamilien kam es oftmals während des evolutionären Prozesses zu einer quantitativen Differenzierung des genetischen Materials; dies gilt sowohl für die Anzahl der Chromosomen als auch für die DNA-Menge. Innerhalb der hier untersuchten Familien läßt sich die Differenzie-

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

rungstendenz mittels der FCM-Methode gut belegen. Die Ergebnisse stimmen hierbei vollständig mit den Resultaten der bereits früher durchgeführten Karyotypanalysen überein. Innerhalb der untersuchten Pipidae treten 20—36 Chromosomen (Morescalchi 1973, 1981) auf, bei Echsen aus den Familien Gekkonidae 32—46, Agamidae 20—38 (Moody & Hutterer 1978), Scincidae 24—32 und Chamaeleonidae 20—34 (Gorman 1973).

Auch innerhalb einer Gattung sind unterschiedliche Chromosomenzahlen nicht selten (*Xenopus laevis* 36, *X. tropicalis* 20; *Hemidactylus flaviviridris* 46, *H. turcicus* 44) (Gorman 1973; Thiebaud & Fischberg 1977). Duchflußzytophotometrische Messungen erlauben hingegen Aussagen über den absoluten oder relativen DNA-Gehalt. Die DNA-Menge ist hierbei charakteristisch für den jeweiligen Genotyp; da die Variabilität gering ist, kann der Wert als arttypisch angesehen werden. Höhere DNA-Werte korrespondieren mit zunehmender Chromosomenzahl wie z. B. in der Gattung *Xenopus*; *X. tropicalis* mit 20 Chromosomen wird als sehr alte Art angesehen, die völlig abweicht von den Arten mit 36 Chromosomen (Thiebaud & Fischberg 1977, Reumer & Graf 1986). Die Zunahme der DNA bei diesen Tieren wird als Duplikation von genetischem Material interpretiert (Dournon et al. 1984). Unterschiedliche DNA-Werte von weiblichen und männlichen Tieren ergaben sich ebenfalls bei den FCM-Analysen. Diese Unterschiede weisen auf Veränderungen in der chromosomalen Konstitution der einzelnen Geschlechter hin. Bei Säugetieren sind spezifische Geschlechtschromosomen (X, Y) mit unterschiedlichem DNA-Gehalt dafür verantwortlich. Bei Amphibien sollen heteromorphe Regionen einzelner Chromosomen dafür ursächlich sein (Dournon et al. 1984).

Bei dem bisher nicht klassifizierten *Xenopus* aus Tansania (*Xenopus* spec.) ergaben sich Ähnlichkeiten mit *Xenopus laevis*. Die FCM-Daten lassen auf eine enge Beziehung beider Arten schließen. Karyotypanalysen bestätigen diesen Befund (Schütte persönl. Mitteilung). Untersuchungen der *Hemidactylus*-Arten zeigten signifikante Unterschiede im DNA-Gehalt. *H.* (*turcicus*) *parkeri* weist einen geringeren DNA-Gehalt auf als *H. flaviviridis*. Diese Daten stimmen mit Karyotypanalysen beider Arten überein (Gorman 1973). Ähnliche Ergebnisse erbrachten Messungen bei *Ptyodactylus. P. guttatus* zeigt geringere DNA-Werte als *P. hasselquistii*. Die frühere Annahme, daß *P. guttatus* eine Subspecies von *P. hasselquistii* sei (Werner 1965) kann damit widerlegt werden, was gut mit den serologischen und morphologischen Ergebnissen von Heimes (1982) übereinstimmt. Untersuchungen an den Agamiden ergaben Unterschiede im DNA-Gehalt/Zelle. Der Karyotyp von 2n = 36 mit 12 metazentrischen Chromosomen und 24 Mikrochromosomen ist für *Agama stellio* typisch und wird als primitive Form innerhalb der Gattung angesehen (Moody & Hutterer 1978). Bei *Agama impalearis* und *yemenensis* mit bisher unbekanntem Karyotyp wurden niedrigere DNA-Werte als bei *A. stellio* ermittelt. Dieses deutet auf einen Verlust von genetischem Material bei beiden Arten hin, z. B. Verlust an repetitiven Sequenzen. Die Ergebnisse an den beiden Skinken *Chalcides ocellatus* und *Mabuya brevicollis* zeigen, daß die DNA-Menge bei verschiedenen geographischen Populationen konstant ist. So weisen *C. ocellatus* aus Kreta und Syrien nahezu identische Mengen genetischen Materials auf, ebenso die untersuchte dunkle und helle Form (Fritz & Schütte, im Druck) von *M. brevicollis.* Gleiches gilt für *Chamaeleo calyptratus* aus dem Nord- und Süd-Jemen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Danksagung

Die Autoren danken Herrn Dipl. Biol. F. Schütte, Bonn, für die Bereitstellung des Amphibienmaterials aus seiner Zucht und Herrn Dipl. Biol. F. J. Obst, Dresden/DDR, für die Überlassung des *Chamaeleo calyptratus* aus der Demokratischen Volksrepublik Jemen. Herrn Dr. W. Böhme/Bonn und Herrn Prof. Dr. W. Göhde/Münster sei für ihre konstruktive Beurteilung dieses Manuskriptes gedankt.

Zusammenfassung

Durchflußzytophotometrische DNA-Bestimmungen wurden an Zellmaterial aus 10 Amphibien- und 16 Reptilien-Species durchgeführt. Die Zellen wurden mit dem DNA-spezifischen Fluorochrom DAPI gefärbt, und der absolute DNA-Gehalt/Zelle wurde unter Verwendung von Hühnererythrozyten als internem Standard mit bekanntem DNA-Gehalt ermittelt. Dabei zeigten kernhaltige Erythrozyten einen geringeren DNA-Wert als Zellen, die aus Geweben präpariert wurden. Unterschiede im DNA-Gehalt konnte auch bei Erythrozyten von weiblichen und männlichen Tieren in der Gattung *Xenopus* festgestellt werden, weibliche Tiere zeigten etwas höhere DNA-Werte als männliche. Für jede der untersuchten Species konnte ein charakteristischer DNA-Gehalt ermittelt werden. Für vergleichende durchflußzytophotometrische Untersuchungen ist es unbedingt erforderlich, gleichartiges Zellmaterial zu verwenden, wie an den unterschiedlichen Werten von Blut- und Gewebezellen demonstriert. Die Durchflußzytophotometrie erscheint als schnelle und sensitive Methode bei der Bestimmung zellulärer DNA geeignet, als zusätzlicher zytogenetischer Marker in der zoologischen Taxonomie eingesetzt zu werden.

Schriften

Altman, P. L. & D. D. Katz (1976): Biological Handbook I, Cell Biology. — Fed. Amer. Soc. Exp. Biology (Bethesda).

Brattain, M. C. (1979): Tissue Disaggregation, in: Flow Cytometry and Sorting (Hrsg. Melamed M. R., P. F. Mullany & M. L. Mendelsohn, John Wiley & Sons, New York, S. 193—206.

Burton, K. (1956): A study of the conditions and mechanism of the Diphenylamine reaction for the colometric estimation of Deoxyribonucleic acid. — Biochem. J. 62: 315—322.

Coulson, P. A., A. O. Bishop & R. Lenarduzzi (1977): Quantitation of cellular Deoxyribonucleic acid by flow microfluorometry. — J. Histochem. Cytochem 25: 1147—1153.

Crissman, H. A., P. F. Mullany & J. A. Steinkamp (1975): Methods and application of flow systems for analysis and sorting of mammalian cells. In: Methods in Cell Biology (Hrsg. Prescott D. M.) Vol. 9, Academic Press New York, S. 179—246.

Dournon, C., F. Guillet, D. Boucher & J. C. Lacroix (1984): Cytogenetic and genetic evidence of male sexual inversion by heat treatment in the newt *Pleurodeles poireti.* — Chromosoma 90: 261—264.

Fasman, G. D. (1976): Handbook of biochemistry and molecular biology. — Nucleic Acid, CRC Press Cleveland.

Fritz, J. P. (1985): Zur Kenntnis der Reptilienfauna der Arabischen Republik Jemen. — Diplomarbeit Universität Hohenheim.

— & F. Schütte (1987a): Zur Biologie jemenitischer *Chamaeleo calyptratus* Duméril und Duméril 1851, mit einigen Anmerkungen zum systematischen Status. — Salamandra 23: 17—25.

— & — (1987b): Geckos der Gattung *Pristurus* Rüppel 1835, aus der Arabischen Republik Jemen. — Bonn. zool. Beitr. 38: 47—57.

— & — (1987c): Geckos der Gattung *Pristurus* und *Hemidactylus* aus der Arabischen Republik Jemen. — Bonn. zool. Beitr. 38: 115—128.

— & — (1988): Skinke aus der Arabischen Republik Jemen. — Salamandra, im Druck.

Gorman, G. C. (1973): Chromosomes of the Reptilia, a cytotaxonomic interpretation, in: Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution (Hrsg. Chiarelli, A. B. & E. Capanna) Academic Press, S. 349—424.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zoologicalbulletin.de; www.biologiezentrum.at

Heimes, P. (1982): Untersuchungen zur Systematik der Fächerfinger (Gattung *Ptyodactylus*, Reptilia: Sauria: Gekkonidae). — Diplomarbeit Universität Marburg.

Hoyer, B. H., B. J. McCarthy & E. T. Bolton (1964): A molecular approach in the systematics of higher organisms. — Science 144: 959—967.

Joger, U., E. Wallikewitz & A. Hauschild (1986): Hormon- und serochemische Untersuchungen zur Bestimmung des Geschlechts und zur Überprüfung des Gesundheitszustandes bei *Trachysaurus rugosus* (Gray 1827) (Sauria: Scincidae). — Salamandra 22: 21—28.

Mendelsohn, M. L. (1980): The attributes and application of Flow Cytometry, in Flow Cytometry IV (Hrsg. Laerum O. D., T. Lindomo & E. Thorud) Universitetsforlaget Oslo, S. 15—27.

Moody, S. & R. Hutterer (1978): Karyotype of the agamid lizard *Lyriocephalus scutatus* (L., 1758), with a brief report of the chromosomes of the lizard family Agamidae. — Bonn. zool. Beitr. 29: 165—170.

Morescalchi, A. (1973): Amphibia, in: Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution (Hrsg. Chiarelli, A. B. & E. Capanna) Academic Press, S. 233—348.

— (1981): Karyology of the main groups of African frogs. — Monitore Zool. Ital. (N. S.) Suppl. XV: 41—53.

Reumer, J. W. F. & D. Graf (1986): Contribution to the phylogeny of *Xenopus* (Anura: Pipidae). — Studies. Herpetol. Rocêk Z. (Prag): 107—110.

Schütte, F. (1986): Zur Kenntnis der Amphibienfauna der Arabischen Republik Jemen. — Diplomarbeit Universität Hohenheim.

— & M. Spieler (1986): Zur Haltung und Zucht von *Osteocephalus verruciger* (Werner 1901). Herpetofauna 8, 44: 19—24.

Sokol, O. M. (1975): The phylogeny of anuran larvae, a new look. — Copeia 1—23.

Thiebaud, C. H. & M. Fischberg (1977): DNA content in the genus *Xenopus*. Chromosoma 59: 253—257.

Thornthwaite, J. T., E. V. Sugarbaker & W. J. Temple (1980): Preparation of tissues for DNA flow cytometric analysis. — Cytometry 1, 3: 229—237.

Ulrich, I. & W. Ulrich (1986): Flow cytometric DNA-analysis of plant protoplasts stained with DAPI. — Z. Naturforsch. 41c: 1052—1056.

Werner, Y. L. (1965): Über die israelischen Geckos der Gattung *Ptyodactylus* und ihre Biologie. — Salamandra 1: 15—25.

Zante, J., J. Schuman, B. Barlogie, W. Göhde & T. Büchner (1976): New preparation and staining procedures for specific and rapid analysis of DNA distributions, in: Pulse-Cytometry II (Hrsg. Göhde, W., J. Schuman & T. Büchner) European Press Medicon, S. 97—106.

Dr. W. Ulrich, Dipl. Biol. B. Fritz, Institut für Genetik, Garbenstr. 30, Universität Hohenheim, 7000 Stuttgart 70; Dipl. Biol. J. P. Fritz, Walbrunnenstr. 6, 7000 Stuttgart 70.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Bonn zoological Bulletin - früher Bonner Zoologische Beiträge.

Jahr/Year: 1988

Band/Volume: 39

Autor(en)/Author(s): Ulrich W., Fritz Barbara, Fritz Johannes-Peter

Artikel/Article: Durchflußzytophotometrische DNA-Bestimmung bei ausgewählten Amphibien- und Reptilien-Arten 49-58